

## ЭЛЕМЕНТЫ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ, РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА И ФИТОГОРМОНЫ В РЕГУЛЯЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ И НАКОПЛЕНИЯ ИЗОХИНОЛИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ *PARAVER SOMNIFERUM* L.

Витебский государственный медицинский университет, Витебск

\*Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва

*С использованием в качестве модельной системы проростков *Paraver somniferum* изучено влияние возрастающих доз минеральных элементов, регуляторов роста и фитогормонов на образование и накопление изохинолиновых алкалоидов. Установлены основные закономерности их влияния, расшифрован механизм действия кобальта и гиббереллина на этот процесс.*

Несмотря на значительные достижения в области разработки и производства синтетических болеутоляющих средств, получаемые из мака снотворного морфин и кодеин, а также довольно многочисленные препараты на их основе до сих пор не утратили своего значения.

В связи с тем, что химический синтез этих алкалоидов экономически не рентабелен, были предприняты многочисленные попытки их получения с помощью культуры изолированных тканей растений. Однако они также не увенчались успехом, и до сих пор коробочки мака снотворного и получаемый из растений опий являются промышленным источником сырья для получения алкалоидов морфина и кодеина. Отсутствие прогресса в этом направлении отчасти связано с недостаточной степенью изученности молекулярных механизмов регуляции биосинтеза изохинолиновых алкалоидов, в том числе роли элементов минерального питания, регуляторов роста и фитогормонов [31,48-49,72-74]. В решении вопросов подобного рода традиционным является использование полевых опытов, постановка которых отличается значительной трудоемкостью, связана с неконтролируемым или плохо поддающимся контролю влиянием многих природных факторов и отличается продолжительностью во времени (требует не один вегетационный сезон).

В связи с этим актуальным является разработка лабораторных методических приемов и способов изучения регуляции образования и накопления указанных соединений в растениях.

В качестве альтернативы полевым и вегетационным опытам для выявления физиологически активных соединений и факторов, влияющих на процессы образования и накопления алкалоидов, в том числе изохинолиновых, нами предложено использование проростков.

Выбирая в качестве основного объекта исследования проростки, мы исходили из следующего: во-первых, в процессе прорастания семян, роста и развития проростков происходит становление алкалоидсинтезирующей системы растения, что дает возможность изучать этот процесс в динамике; во-вторых, изолированные от проростка части довольно длительное время сохраняют жизнеспособность, что является важным для выяснения роли отдельных частей проростка в изучаемом процессе; в-третьих, из проростков сравнительно легко получить бесклеточные системы и выделить отдельные ферменты; в-четвертых, использование в опытах большого числа проростков создает выровненный экспериментальный материал; и, наконец, опыты с проростками не требуют создания контролируемых условий в больших объемах, они сравнительно кратковременны и нетрудоемки.

Целью настоящей работы было исследовать влияние возрастающих концентраций элементов (Co, Ni, Zn, W, Mn, Cr, Cu, B, Mo, Fe и V) на образование и накопление изохинолиновых алкалоидов в растениях *P. somniferum* L.

## МЕТОДИКА

В качестве основного объекта исследования использовали проростки *P. somniferum*. Для получения проростков применяли семена промышленной популяции мака масличного (Украинская ЗОС ВИЛР, сорт Новинка 198). Лабораторная всхожесть семян составляла не менее 85-95%. Проращивание семян мака проводили при 30°C в люминистате или в темноте в течение 4-6 дней в чашках Петри на беззольных фильтрах (красная лента), смоченных водой очищенной (контроль) или водными растворами солей исследованных элементов или регуляторов роста (опыт). Были использованы соответствующие хлориды или натриевые соли элементов: хлориды марганца, хрома, меди, цинка, никеля, а также молибдат натрия, борат натрия, ванадат натрия и вольфрамат натрия.

Навеску сырого растительного материала после окончания опыта гомогенизировали в ступке с этанолом до получения однородной суспензии. Полученную суспензию количественно переносили в мерную колбу на 25 мл, доводили до метки этанолом и настаивали в течение 3-5 час при комнатной температуре, периодически перемешивая. Затем суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 8 000 об/мин. Из 20 мл полученного центрифугата растворитель отгоняли досуха на ротационном испарителе. Остаток растворяли в 3-4 мл эфира, прибавляли 10 мл 2%-ного раствора уксусной кислоты и эфир отгоняли. Полученный водно-кислый раствор, содержащий сумму алкалоидов, охлаждали в струе холодной воды или на льду. Выпавшие в осадок липофильные балластные вещества отделяли фильтрованием через бумажный фильтр в сочетании с мембранным. Осадок на фильтре промывали 2%-ным раствором уксусной кислоты (2 x 4 мл). Объем фильтрата доводили до 25 мл.

5-10 мл полученного фильтрата помещали в делительную воронку, содержащую 5 мл ацетатного буфера, прибавляли 2 мл раствора бромкрезолпурпурного (БКП) и экстрагировали хлороформом 2 раза по 5 мл, сливая нижний хлороформный слой в мерную колбу на 10 мл. Объем экстракта доводили до метки и центрифугировали 10 мин при 2 000 об/мин. Измеряли оптическую плотность центрифугата при 410 нм против контроля на реактивы. Содержание суммы алкалоидов рассчитывали по калибровочному графику, построенному по основному алкалоиду проростков тебаину. Уравнение калибровочного графика:

$$X = 0,001 + 185,19 D,$$

где:

X - количество тебаина в пробе, мкг;

D - оптическая плотность.

Оставшуюся после количественного определения часть фильтрата переносили в делительную воронку, подщелачивали 25%-ным раствором аммиака до pH 9-10 и алкалоиды многократно (не менее 3 раз) экстрагировали смесью хлороформа с изопропанолом в соотношении 3:1, последовательно фильтруя каждую порцию экстракта через слой безводного сульфата натрия. Растворитель из экстракта отгоняли досуха на ротационном испарителе. Остаток растворяли в 0,15 мл этанола.

0,05 мл полученного раствора суммы алкалоидов наносили штрихом длиной около 1 см на пластинку силифола и хроматографировали восходящим способом на всю высоту пластинки в системе растворителей толуол-ацетон-этанол-25% аммиак в соотношении 20:20:4:1,5. После высушивания под феном алкалоиды проявляли модифицированным реактивом Драгендорфа. Зоны сорбции алкалоидов отмечали иглой и пластинку снова высушивали для предупреждения потемнения фона.

В опытах с использованием  $^{14}\text{C}$ -триптофана по пять 4-5-суточных проростков мака масличного инкубировали в течение 2 суток с 0,5 мл растворов, содержащих по 250  $\mu\text{Ci}$   $^3\text{T}$ -тирозина в растворах солей элементов или регуляторов роста (см. табл. 5). Проростки после включения  $^3\text{T}$ -предшественника промывали в течение 1-2 мин водой и гомогенизировали в ступке с этанолом до получения однородной суспензии. Полученную суспензию количест-

венно переносили в мерную колбу на 25 мл, доводили до метки этанолом и настаивали в течение 3-5 часов при комнатной температуре, периодически взбалтывая. В качестве носителей к этанольному экстракту прибавляли очищенную сумму алкалоидов, выделенную из коробочек мака масличного. Затем суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 8000 об/мин. Из 20 мл полученного центрифугата растворитель отгоняли досуха на ротационном испарителе. Остаток растворяли в 3-4 мл диэтилового эфира, прибавляли 10 мл водного раствора уксусной кислоты и эфир отгоняли. Полученный раствор охлаждали. Выпавшие в осадок липофильные балластные вещества отделяли фильтрованием через плотный бумажный фильтр в сочетании с мембранным фильтром. Осадок на фильтре промывали раствором уксусной кислоты.

Фильтрат подщелачивали 25% раствором аммиака до pH 9-10 и алкалоиды многократно экстрагировали хлороформом, последовательно фильтруя каждую порцию полученного экстракта через слой безводного сульфата натрия. Растворитель из полученного экстракта отгоняли досуха. Остаток растворяли в 0,5 мл этанола.

Для разделения меченых алкалоидов использовали двумерную ТСХ на силикагеле (Силуфол). 0,03-0,05 мл этанольного раствора суммы алкалоидов наносили штрихом длиной около 1 см в один из углов пластинки силуфола размером 20 x 20 см. Хроматографировали восходящим способом сначала в системе растворителей бензол-хлороформ-ацетон-метанол в соотношении 8:8:2:6 + 1 капля 25% аммиака, а затем, после промежуточного высушивания, в другом перпендикулярном первом направлении в системе растворителей толуол-ацетон-этанол-25% аммиак в соотношении 20:20:4:1.5. После вторичной сушки алкалоиды проявляли модифицированным реактивом Драгендорфа. Зоны сорбции алкалоидов отмечали иглой и пластинки для разрушения комплексов алкалоидов с реактивом Драгендорфа опрыскивали аммиачным раствором тиосульфата натрия. Отмеченные зоны силикагеля с алкалоидами соскабливали и алкалоиды экстрагировали смесью хлороформа и этанола в соотношении 1:1. После отгонки растворителя сухой остаток растворяли в 0,5 мл метанола и использовали для определения радиоактивности.

Определение радиоактивности суммы и индивидуальных алкалоидов проводили на жидкостном сцинтилляционном счетчике марки SL-30 и SL-400 ("Интертехник", Франция) с эффективностью счета до 95% по углероду. Для счета использовали сцинтилляционную смесь состава: толуол-этанол-РРО (2,5-дифенилоксазол)-РОРОР [1,4-ди-(5-фенил-2-оксазолилбензол)] в соотношении 3:1 (об/об) и 2:0.03 (в/в), соответственно.

## *РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ*

Результаты опытов по изучению влияния ряда элементов минерального питания на образование и накопление изохинолиновых алкалоидов в проростках мака снотворного представлены табл. 1, из которых видно, что все изученные элементы оказывают существенное влияние на указанный процесс. По характеру кривой зависимости их эффекта от концентрации они могут быть разделены на три группы.

Таблица 1  
Влияние концентрации элементов на содержание суммы изохинолиновых алкалоидов (нг/проросток) в проростках *Paraver somniferum*

Элемент	Концентрация элементов, mM													
	контроль		0,001		0,01		0,1		1		10			
	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%		
Бор	75,8±2,100	100	66,7±2,229	91	60,6±0,117	83	68,2±1,305	93	56,1±0,832	77	9,9±0,124	13		
Медь	83,9±0,995	100	73,8±0,810	87	68,8±1,477	81	94,8±1,133	112	116,6±1,08	138	20,9±0,492	25		
Железо	73,1±0,925	100	69,4±2,029	96	65,8±1,646	91	32,9±0,164	45	26,3±0,654	36	15,4±0,350	21		
Молибден	80,0±1,853	100	112,0±4,28	144	122,4±1,202	158	115,2±3,88	148	92,0±2,136	118	21,6±0,093	28		
Ванадий	78,0±0,106	100	62,4±1,536	80	54,6±1,051	70	60,8±0,435	78	54,6±1,690	70	29,6±1,187	38		
Кобальт	82,4±0,636	100	107,1±2,61	131	126,8±1,057	155	116,2±1,15	142	65,9±1,548	81	45,3±0,736	56		
Никель	83,9±0,995	100	73,8±0,810	87	68,8±1,477	81	94,8±1,133	112	116,6±1,08	138	20,9±0,492	25		
Вольфрам	71,4±0,981	100	74,3±0,690	103	80,7±0,508	112	84,3±2,195	117	39,3±1,201	55	21,4±0,286	30		
Хром	84,2±1,801	100	79,9±3,619	96	101,9±2,987	123	130,5±3,02	157	79,9±2,664	96	58,9±0,668	71		
Марганец	89,0±0,856	100	80,1±1,794	90	80,1±1,921	90	80,1±3,301	90	66,7±1,392	75	53,4±1,615	60		
Цинк	81,0±1,384	100	72,9±1,139	88	72,9±1,162	88	72,9±1,488	88	60,8±1,129	74	48,6±1,111	59		
Кальций	85,0±2,391	100	82,4±0,968	96	49,3±0,953	58	40,8±0,126	48	31,5±1,192	37	27,2±0,972	32		

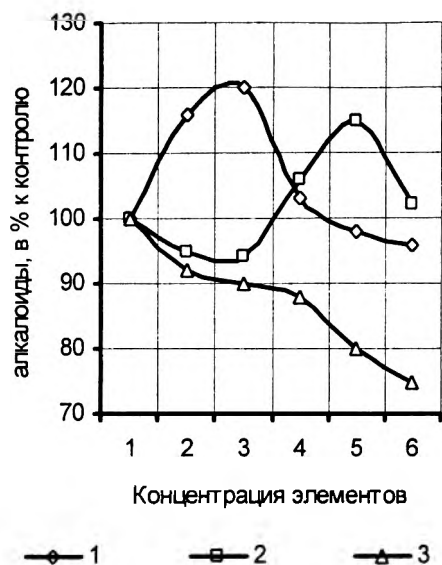


Рис.1. Основные типы зависимостей эффекта элементов от их концентрации

Первую группу составляли Mo, Co, Ni и W, вторую - Cu и Cr, третью - B, V, Mn, Zn, Fe и Ca.

Элементы первой группы стимулировали образование и накопление алкалоидов в проростках мака снотворного. Зависимость эффекта элементов от их дозировки в среде носила колоколообразный характер (рис. 1, тип 1). Оптимальной для продукции алкалоидов в проростках мака является концентрация Co, Mo и Ni - 0.01 мМ, W - 0.1 мМ. Особенность действия элементов второй группы состоит в том, что с повышением концентрации элементов увеличению накопления алкалоидов предшествует снижение их содержания ниже контрольного уровня (рис. 1, тип 2). Элементы третьей групп ингибируют образование и накопление алкалоидов (рис. 1, тип 3).

Такое разнообразие эффектов элементов можно рассматривать как свидетельство определенной специфичности их действия, поскольку неспецифическая реакция на элементы минерального питания как стрессовый фактор предполагает сходный характер зависимостей, чего, однако, не наблюдается в действительности.

Среди исследованных элементов бор являлся одним из первых, для которых удалось получить данные относительно механизма действия на образование и накопление алкалоидов в маке снотворном. Повышенный интерес многих исследователей к этому элементу в значительной степени был обусловлен важной ролью бора в формировании сырьевых частей растения - коробочек и семян. Было установлено как отсутствие [54, 56, 60]), так и наличие, наряду со стимулирующим [1,17,60], также ингибирующего [51] влияния этого элемента на образование и накопление морфина в коробочках мака. Такая противоречивость данных в значительной степени была обусловлена неодинаковыми условиями проведения опытов. Ясность в механизм действия бора была внесена результатами работ [54], в которых осуществлялось комплексное изучение влияния бора на содержание морфина и других форм азота. В результате было обнаружено, что внесение в почву или некорневая подкормка бором приводили к значительному увеличению поглощения азота растениями мака снотворного. Следствием увеличения поступления азота в растения являлось усиление синтеза различных азотсодержащих соединений, в том числе аминокислот, что в конечном итоге благоприятно сказывалось на накоплении происходящих из них соединений, к числу которых относятся и алкалоиды [54]. В условиях отсутствия или недостатка азота в среде преимущественно проявлялось ингибирующий эффект бора [51]. Подобная ситуация, очевидно, имела место и в наших опытах с проростками мака снотворного.

Стимулирующее влияние хрома, молибдена и вольфрама на накопление изохинолиновых алкалоидов, скорее всего, связано с ингибированием неспецифических фосфатаз [8]. Низкий уровень активности фосфатаз должен благоприятствовать синтезу алкалоидов и их предшественников, поскольку многие промежуточные соединения в цепи реакций биосинтеза аминокислотных предшественников алкалоидов, кофакторы ферментов и макроэргические соединения являются эфирами фосфорной кислоты [13, 34, 61, 62].

Влияние глифосата на образование и накопление суммы алкалоидов в проростках *Paraver somniferum*

Таблица 2

Концентрация глифосата, мкг/мл	Содержание алкалоидов, нг/проросток	
	$\bar{X} \pm Sx$	в % к контролю
Контроль	92,0 $\pm$ 1,302	100
1	77,1 $\pm$ 3,215	84
10	55,0 $\pm$ 1,741	60
100	27,0 $\pm$ 1,263	29
1000	5,0 $\pm$ 0,254	5

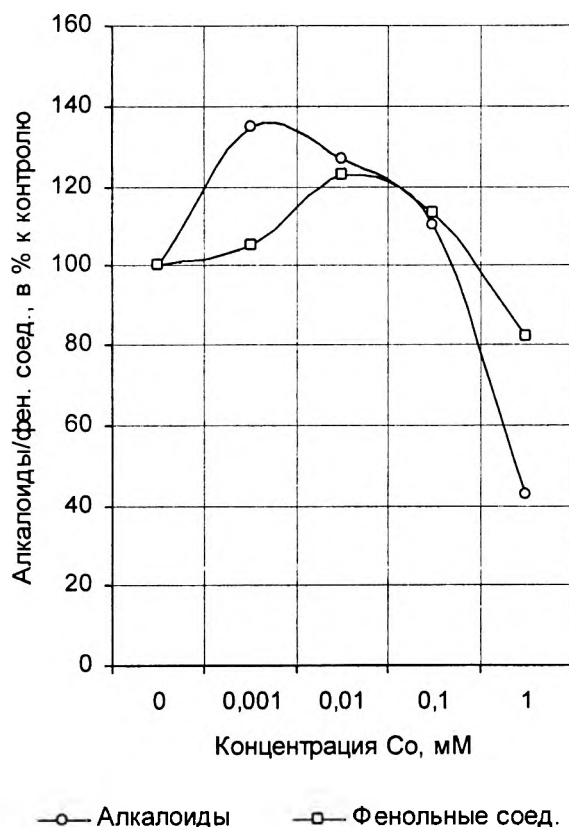


Рис. 2. Влияние различных концентраций Со на синтез алкалоидов и фенольных соединений в проростках *Paraver somniferum*

енолпирувиллицимат-5-фосфат синтазу [23, 78] и цитозольную кобальт зависимую 3-деокси-D-арабино-гептулозонат-7-фосфат синтазу [77], практически не влияя на локализованную в пластидах Mn-зависимую этого фермента. Итогом действия глифосата является торможение биосинтеза не только ароматических аминокислот, но и всех происходящих из них ароматических соединений [40, 44, 57, 58, 75].

Полученные данные по влиянию возрастающих концентраций глифосата на образо-

Действие других элементов носит более специфический характер и может быть преимущественно связано с их влиянием на активность ферментов биосинтеза алкалоидов и их предшественников - ароматических аминокислот. Так, например, стимулирующее влияние кобальта на образование и накопление алкалоидов в проростках мака снотворного, вероятнее всего, реализуется по аминокислотному механизму. Такая возможность следует из данных об активирующем влиянии этого элемента на ключевые ферменты биосинтеза ароматических аминокислот 3-деокси-D-арабино-гептулозонат-7-фосфат синтазу [47, 76] и 3-дегидрохинат синтазу [80]. Имеющееся при этом увеличение биосинтеза не всех, а лишь определенного спектра аминокислот делает действие кобальта более избирательным по сравнению с рассмотренным ранее бором и, в конечном итоге, независимым от наличия источников азота в среде (табл. 1.).

Доказательства активации биосинтеза ароматических аминокислот под влиянием кобальта в условиях *in vivo* были получены в опытах с применением радиоактивной метки, ингибиторов биосинтеза аминокислот, а также при сравнительном изучении эффектов этого элемента на синтез метаболитов, связанных с алкалоидами общностью первичных предшественников, фенольных соединений, в частности.

В качестве ингибитора был использован глифосат [87]. В растительной клетке глифосат специфически ингибирует два фермента биосинтеза ароматических аминокислот - 5-

вание и накопление алкалоидов в проростках мака снотворного представлены в табл. 2.

Наблюдалась практически линейная зависимость в снижении продукции алкалоидов в проростках от концентрации ингибитора. Данный факт ясно свидетельствовал о преобладающем, если не исключительном, использовании в качестве предшественников алкалоидов биосинтезированных *de novo* аминокислот по сравнению с высвобождающимися в ходе мобилизации запасных питательных веществ семени [49].

Увеличение образования и накопления изохинолинов под влиянием кобальта сопровождалось практически параллельной стимуляцией синтеза и накопления фенольных соединений (рис. 2). Этого и следовало ожидать в связи с общностью первичных предшественников фенольных соединений и алкалоидов. Помимо настоящей, стимулирующей эффект кобальта на продукцию фенольных соединений отмечен во многих работах, выполненных на самых различных объектах [4, 5, 6, 12, 15, 69].

Подтверждением тому, что местом действия кобальта является биосинтез ароматических аминокислот, служат также результаты экспериментов по влиянию этого элемента на включение 3,5-Т тирозина в сумму алкалоидов проростков мака. В этих опытах было обнаружено, что включение метки из тирозина в алкалоиды опытных проростков на протяжении всего опыта значительно меньшее (на 15 - 20%) по сравнению с контролем. Данный эффект кобальта хорошо совпадает с ожидаемым при наличии конкуренции между потоками эндогенного и экзогенного предшественника [58].

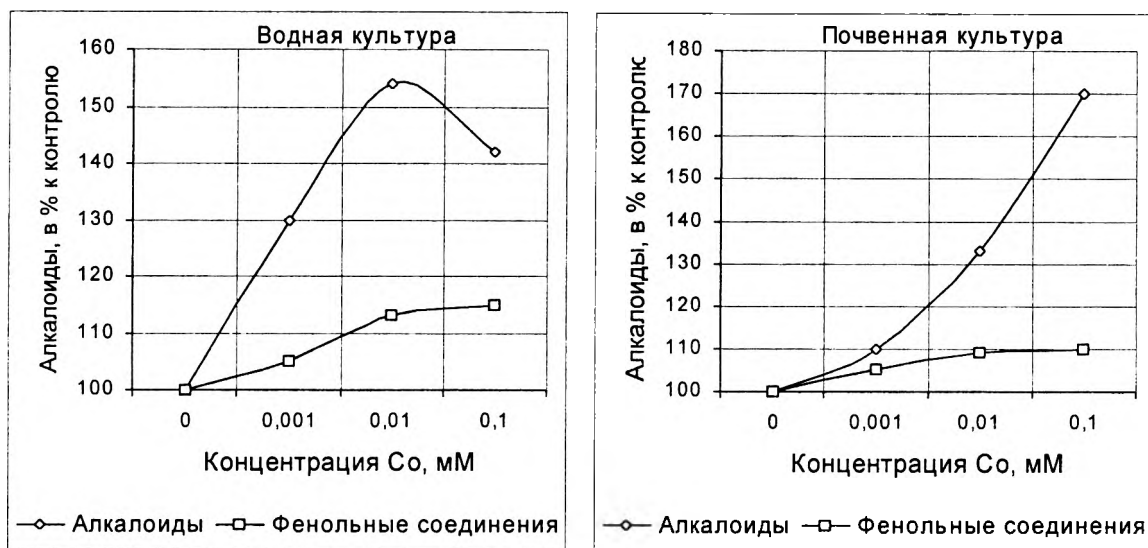


Рис. 3. Влияние Co на биосинтез алкалоидов и фенольных соединений в проростках *Papaver somniferum* в условиях водной и почвенной культур

Активность ферментов биосинтеза ароматических аминокислот может изменяться не только в ответ на введение их активатора - кобальта, но и при его удалении связыванием в хелатные соединения или путем вытеснения и замещения элементами антагонистами. Одним из хорошо известных антагонистов кобальта является железо [19, 86]. Данный элемент при всех исследованных концентрациях снижает продукцию алкалоидов в проростках (рис. 3), хотя их рост и развитие при этом существенных изменений не претерпевают. Выявленный эффект железа полностью совпадал с ожидаемым при наличии его антагонизма с кобальтом в условиях *in vivo*.

Как уже отмечалось ранее, наряду с кобальтом, активатором 3-деокси-D-арабино-гептулозонат-7-фосфат синтазы (ДАГФ-синтазы) является и марганец [47]. В связи с этим можно было ожидать значительного сходства в характере действия кобальта и марганца на продукцию алкалоидов в проростках мака, что, однако, не подтвердилось в действительности (табл. 1). Такое различие в характере действия этих двух элементов

может быть обусловлено различной локализацией и регуляторными свойствами изоферментов ДАГФ-синтазы. Так, например, локализованная в пластидах Мп-зависимая ДАГФ-синтаза подвержена аллостерическому контролю со стороны конечных продуктов биосинтетического пути - ароматических аминокислот, в то время как цитозольная Со-зависимая форма ДАГФ-синтазы не обладает таким свойством [47]. Отсутствие аллостерического ингибирования цитозольной ДАГФ-синтазы со стороны конечных продуктов делает возможным синтез в присутствии активатора кобальта некоторого избытка ароматических аминокислот, используемого, главным образом, в биосинтезе изохинолинов. Подобный стимулирующий эффект марганца на активность пластидной ДАГФ-синтазы частично или полностью снимается включением механизма отрицательной обратной связи, в результате чего образования ощутимого избытка ароматических аминокислот не происходит. Не последнюю роль в этом, по-видимому, играет и различная компартментализация форм ДАГФ-синтазы в клетке.

Действие меди на образование и накопление алкалоидов в проростках *Papaver somniferum*, скорее всего, опосредовано через влияние на активность полифенолоксидазы. По новейшим данным этот медьсодержащий фермент участвует в нескольких ранних стадиях биосинтеза изохинолинов, в том числе в гидроксировании тирозина до ДОФА, 4-гидроксифенилацетальдегида до 3,4-дигидроксифенилацетальдегида и N-метилкоклаурина до 3-гидрокси-N-метилкоклаурина [55, 79]. В растительной клетке полифенолоксидаза локализована в пластидах [81, 88] и аккумулирующих алкалоиды везикулах латекса [71]. Активность полифенолоксидазы является хорошим индикатором обеспеченности растений медью и стимулируется в ответ на введение дополнительных количеств этого элемента [38, 59]. Связывание меди в хелатные комплексы приводит к подавлению активности фермента и снижает накопление алкалоидов в проростках мака снотворного [48, 71].

Отрицательное влияние кальция и ванадия на аккумуляцию алкалоидов в проростках мака может быть связано с влиянием этих элементов на процессы транспорта алкалоидов, промежуточных соединений и предшественников. Данные, подтверждающие такую возможность, имеются для ванадия. Этот элемент в растительной клетке специфически ингибирует протонные АТФ-азы, создающие на мембранах электрохимические градиенты - движущие силы процессов активного транспорта [50, 83, 84, 90]. В везикулах, изолированных из латекса мака снотворного, ванадий тормозит накопление в них морфинановых алкалоидов [41].

В отличие от ванадия, действие которого, как следует из приведенных выше данных, направлено преимущественно на активную (энергозависимую) составляющую процесса накопления алкалоидов, влияние кальция может затрагивать его пассивный компонент. Одной из довольно многочисленных функций кальция в растительной клетке является стабилизация мембран [2, 3, 20, 22, 49, 66, 67]. Реализация подобного эффекта в маке снотворном может приводить к снижению доступности ряда субстратов для ферментов биосинтеза алкалоидов ввиду высокой степени компартментализации этого процесса и ограниченной роли активного транспорта в накоплении алкалоидов [42, 72, 73, 74].

Кальций подавляет синтез и выделение ДОФА иммобилизованными альгинатом клетками *Muscina pruriensis* [89]. В определенном диапазоне концентраций кальций в условиях полевых опытов положительно влияет на накопление морфинановых алкалоидов [24, 52, 85], что может быть связано с уменьшением выхода указанных соединений из аккумулирующих их структур (вакуолей и везикул латекса), где они недоступны для деградирующих ферментов. Однако в больших дозах кальций снижает накопление морфина в коробочках мака снотворного [85].

Приведенная совокупность данных и их обсуждение показывают, что одинаковые по характеру эффекты от применения элементов (стимуляция или ингибирование образования накопления алкалоидов) в своей основе могут иметь принципиально различные



механизмы. Учет механизмов действия, даже в том случае, если они окончательно не установлены, является важным для прогнозирования эффектов от применения смесей элементов. В качестве примера можно привести результаты, полученные при изучении действия на продукцию алкалоидов в проростках смеси, состоящей из эквимоллярных количеств кобальта и молибдена. Теоретически следовало ожидать сложения их эффектов (кобальт активирует ферменты биосинтеза ароматических аминокислот, в то время как молибден способствует большей сохранности фосфорилированных интермедиатов вследствие ингибирования неспецифических фосфатаз).

Таблица 3

Влияние концентрации смеси Co и Mo на продукцию алкалоидов в проростках *Paraver somniferum*

Варианты	Содержание алкалоидов, нг/проросток	
	X ± Sx	в % к контролю
Co 0,01 mM	89,0 ± 1,562	118
Co + Mo 0,0001 mM	107,1 ± 3,872	143
Co + Mo 0,001 mM	94,0 ± 2,957	125
Co + Mo 0,001 mM	75,0 ± 1,597	100
Co + Mo 0,1 mM	58,0 ± 1,521	77

В предварительных опытах при использовании смеси, содержащей оптимальные концентрации кобальта и молибдена (0,01 mM), получить заметный стимулирующий эффект не удалось (табл. 3), хотя рост и развитие проростков были сильно подавлены, чего не наблюдалось при раздельном применении тех же концентраций элементов. Угнетение роста и развития проростков свидетельствовало

о возросшей токсичности смеси элементов, дополняющих друг друга по механизму действия. Снижение концентрации элементов в смеси для уменьшения токсичности позволило выявить значительный стимулирующий эффект в концентрациях на два порядка ниже оптимальных при их раздельном применении (табл. 3). Данный факт представляет существенный интерес с экологической точки зрения в плане снижения последствий от применения элементов в полевых условиях, если таковые имеют место. Изучение влияния регуляторов роста и фитогормонов на образование и накопление алкалоидов в проростках мака снотворного проводили в диапазоне концентраций от 0,1 до 100 мг/л действующего вещества, которые с определенной долей условности можно подразделить на гормональные (менее 10 мг/л) и гербицидные (более 10 мг/л).

Полученные данные, представленные в табл. 4 показали, что среди исследованных соединений этрел - продуцент этилена и гиббереллин оказывали наиболее выраженный стимулирующий эффект на продукцию алкалоидов. Оптимальными концентрациями являются для этрела 0,1 мг/л, гиббереллина - 1 мг/л. Содержание алкалоидов в проростках мака повышалось также, хотя и менее значительно, под влиянием гидразида малеиновой кислоты и кинетина, чему, однако, предшествовало некоторое снижение их количества при наименьших из исследованных концентраций регуляторов роста и фитогормонов. Тидиазурон и особенно ауксины подавляла образование и накопление алкалоидов.

Сравнение полученных нами на проростках данных по влиянию гиббереллина, этрела, ИУК и ГМК на биосинтез алкалоидов с аналогичными, но полученными в условиях полевых опытов, выявило их практически полное совпадение [11, 36, 37, 43, 91].

Относительно механизмов действия всех исследованных регуляторов роста и фитогормонов на образование и накопление алкалоидов в проростках мака снотворного высказать обоснованные предположения пока не представляется возможным. Некоторая ясность в этом плане существует лишь для гиббереллина и этилена. Так, в основе механизма действия гиббереллина, по-видимому, лежит его влияние на состояние и функционирование мембран эндоплазматического ретикулума. Данное предположение осно-

вано на следующих фактах. Во-первых, накопление морфинановых алкалоидов происходит в везикулах латекса [33, 74], ведущих свое начало из мембран эндоплазматического ретикула [63, 64]; во вторых, активирование синтеза и накопления алкалоидов в культуре изолированной ткани мака снотворного, вызванное элициторами, сопровождается значительной пролиферацией эндоплазматического ретикула [31]; в третьих, наиболее ранними изменениями в метаболизме клеток, вызываемых гиббереллином, является активирование ферментов фосфолипидного обмена, участвующих в формировании компонентов мембран эндоплазматического ретикула [14, 16].

Если выдвинутое предположение соответствует действительности, то усиление процесса образования и накопления алкалоидов может быть достигнуто при действии таких соединений, как фенобарбитал, индуцирующее влияние которого на пролиферацию эндоплазматического ретикула в животных и растительных организмах хорошо известно [10, 35, 65, 70, 82].

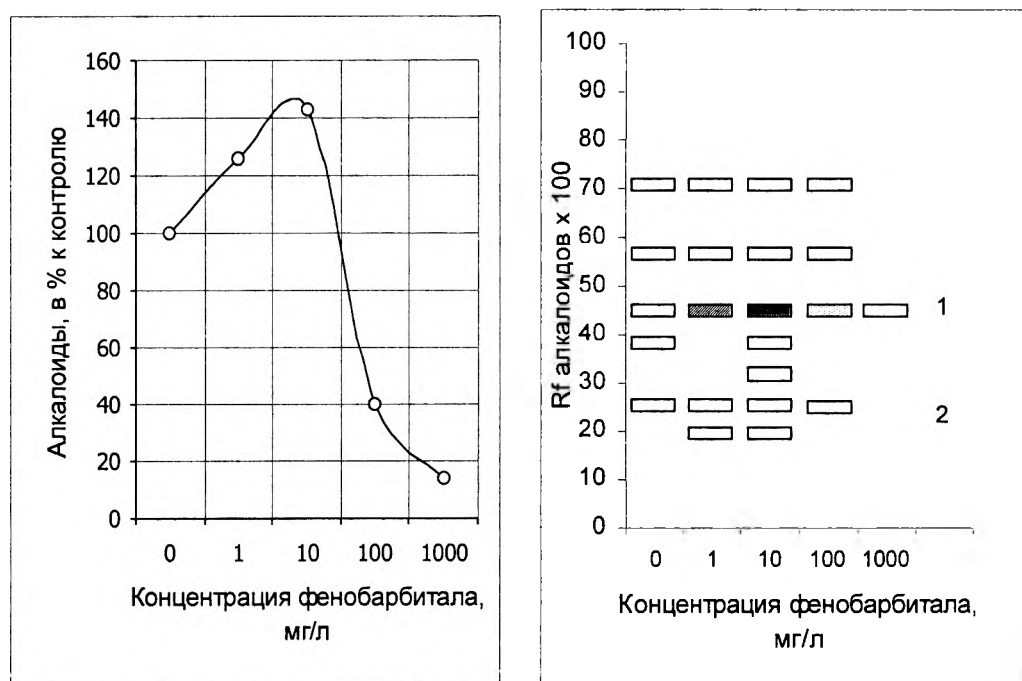


Рис. 4. Влияние различных концентраций фенобарбитала на биосинтез и качественный состав алкалоидов в проростках *Papaver somniferum* 1 – тебаин, 2 – кодеин.

Как видно из данных, приведенных на рис. 4, фенобарбитал не только повышал абсолютное количество алкалоидов в проростках, но и, подобно гиббереллину, увеличивал разнообразие компонентного состава. Различие между фенобарбиталом и гиббереллином состояло лишь в концентрациях, обеспечивающих получение максимальных эффектов.

Совпадение эффектов гиббереллина и фенобарбитала на образование и накопление изохинолинов в проростках мака снотворного является весьма весомым свидетельством в пользу механизма действия гиббереллина, включающего изменения состояния и функционирования эндоплазматического ретикула - основного поставщика "хранилищ" для алкалоидов.

Таблица 4  
Влияние концентрации регуляторов роста и фитогормонов на содержание суммы изохинолиновых алкалоидов (нг/проросток) в проростках *Paraver somniferum*

Регулятор роста или фи- тогормон	Концентрация регуляторов роста, мг/л									
	контроль		0,1		1		10		100	
	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%
ИУК	81,9±1,454	100	57,3±0,529	68	49,1±1,295	58	18,0±0,561	21	12,3±0,116	14
Дитиазурон	71,0±1,591	100	56,8±0,283	77	62,5±1,864	85	49,7±1,592	67	46,1±1,136	62
Гиббереллин	79,0±1,802	100	96,4±2,577	122	134,3±3,153	170	109,0±4,381	138	87,7±1,710	111
Этрел	90,0±1,736	100	117,0±2,58	130	93,6±0,900	104	85,5±2,482	95	77,4±1,835	86
НУК	85,0±2,064	100	56,1±0,547	64	28,1±0,604	32	22,1±0,232	25	16,2±0,383	18
ГМК	81,0±1,571	100	79,4±2,155	98	89,9±0,437	111	93,9±2,213	116	46,2±1,024	57
ДРОП	74,2 ±0,881	100	59,4±1,666	78	55,6±0,509	73	39,3±0,712	59	7,42±0,150	10

Данные о стимулирующем влиянии фенobarбитала на биосинтез алкалоидов в проростках мака были опубликованы нами в 1989 году [21]. Они были подтверждены в 1997 году немецкими исследователями [39], которые показали связь стимулирующего эффекта фенobarбитала и некоторых других барбитуратов с индукцией специфических микросомальных цитохром Р-450-зависимых монооксигеназ – (S)-N-метилкоклаурин 3'-гидроксилазы и bb-фермента.

В отличие от гиббереллина, действие которого преимущественно направлено на увеличение "размеров" системы биосинтеза и аккумуляции алкалоидов, влияние этрела - продуцента этилена может быть связано с активированием процессов транспорта. Данное предположение основано на результатах опытов с проростками риса, в которых было показано стимулирующее влияние этилена на передвижение как чужеродного флуоресцентного красителя уранина [45], так и меченых С-14 природных метаболитов [46]. В других опытах этилен увеличивал поглощение сахарозы и синтез каучука в млечниках *Nevea brasiliensis* [25, 53], во многом напоминающих подобные структуры представителей семейства *Rapaveraceae* [27, 50]. Обработка растений мака снотворного этрелом повышает выход опия и содержание в нем морфина [68].

Таблица 5

Влияние сочетаний регуляторов роста и микроэлементов на образование и накопление изохинолиновых алкалоидов в проростках *Rapaver somniferum*

Варианты	Содержание алкалоидов, нг/проросток	
	X ± Sx	в % к контролю
Контроль	71,1 ± 2,605	100
Со 0,001 мМ	79,0 ± 0,216	111
Мо 0,001 мМ	75,1 ± 2,089	106
ГК 1 мг/л	87,1 ± 1,669	122
Этрел 0.1 мг/л	85,1 ± 3,016	119
Со + ГК	79,1 ± 3,543	111
Мо + ГК	68,1 ± 2,478	95
Со + Мо + ГК	40,0 ± 1,189	56
Со + Мо	83,0 ± 1,227	116
Со + Этрел	67,1 ± 2,972	94

Между содержанием и активностью фитогормонов и обеспеченностью растений элементами минерального питания существуют сложные взаимоотношения [7, 9, 18, 32]. В связи с этим представляло значительный интерес исследовать эффекты от совместного применения некоторых из наиболее активных стимуляторов накопления алкалоидов среди фитогормонов и минеральных элементов. Испытанию на проростках были подвергнуты различные сочетания кобальта и молибдена с гиббереллином и этрелом. Для снижения токсичности смеси элементы были взяты в субоптимальных концентрациях. Полученные результаты представлены в табл. 5. Во всех случаях совместного применения регуляторов роста и микроэлементов, особенно в смеси с последними, было получено снижение количества алкалоидов в проростках мака снотворного. Отрицательные результаты были получены также и при испытании смесей микроэлементов и фитогормонов в условиях полевых опытов [29, 30].

## ВЫВОДЫ

Таким образом, биосинтез изохинолиновых алкалоидов в растениях *Papaver somniferum* находится под контролем сложного взаимодействия регуляторов роста, фитогормонов и минеральных элементов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Арсюхина Л.И. Влияние бора на урожай и качество мака масличного // Сборник научных работ ВИЛР.- Вып. 3.- М., 1971.- С. 112-115.
2. Бауман В.К. Кальций в структуре и функции мембран // Биомембраны.- Рига: Зинатне, 1977.- С. 198-215.
3. Бушуева Т.М. О роли кальция в растительной клетке // Бот. журнал.- 1964.- Т. 49.- N 3.- С. 439-449.
4. Гринкевич Н.И., Ковальский В.В., Грибовская И.Ф. Некорневая подкормка микроэлементами - метод повышения биологической активности лекарственного растительного сырья // Агрохимия.- 1969.- N 10.- С. 72-82.
5. Гринкевич Н.И., Грибовская И.Ф., Баландина И.А. Влияние некорневой подкормки солями микроэлементов на увеличение биологической массы, накопление флавоноидов и повышение активности ферментов гречихи окаймленной // Агрохимия.- 1973.- N 4.- С. 98-104.
6. Гюльяхмедов А.Н., Кулиев Ш.М., Гянджимер А.В. Влияние кобальта на урожай и качество пшеницы, риса и чайного растения в условиях Шикизакатальской зоны Азербайджанской ССР // Тез. докл.- Биол. роль кобальта.- М., 1969.- С. 90-91.
7. Деева В.П. О физиологическом взаимодействии микроэлементов и регуляторов роста растений // Роль микроэлементов в процессах роста и развития растений.- Вильнюс: Минтис, 1965.- С. 31-35.
8. Добролюбский О.К., Евстратова Т.М. Влияние микроэлементов на содержание фосфора и активность фосфатаз в винограде // Физиол. и биохим. культ. растений.- 1978.- Т. 10.- N 1.- С. 95-99.
9. Жолобак Г.М., Гудков И.Н. Фитогормональная регуляция минерального питания растений // Физиол. и биохим. культ. растений.- Киев, 1984.- 86 с. Рук. деп. в ВИНТИ 13 сент. 1984 г., N 6219-84 Деп.
10. Запрометов М.Н., Ермакова С.А. Система цитохрома Р-450 в этиолированных проростках ячменя и ее участие в метаболизме некоторых чужеродных соединений // Биохимия. - 1989.- Т. 54.- N 6.- С. 1034-1040.
11. Калантырь М.С., Лясота Н.И. Влияние гиббереллина на рос и развитие лекарственных растений и накопление в них биологически активных веществ // Тр. ВИЛР.- 1968.- Т. 13.- С. 209-221.
12. Ковальский В.В., Гринкевич Н.И., Грибовская И.Ф. и др. Кобальт в лекарственных растениях и его влияние на физиологически активные вещества // Раст. ресурсы.- 1971.- Т. 7.- Вып. 4.- С. 503-510.
13. Кретович В.Л. Усвоение и метаболизм азота у растений. -М.: Наука, 1987.- 486 с.
14. Муромцев Г.С., Агнистикова В.Н. Гиббереллина.- М.: Наука, 1984.- 208 с.
15. Ордынец Л.Т. Влияние кобальта на динамику дубильных веществ в проростках горца забайкальского // Биохимическая роль марганца в растениях.- Челябинск, 1967.- С. 52-56.
16. Уоринг Ф., Филлипс И. Рост растений и дифференцировка.- М.: Мир, 1984.- 486 с.
17. Шеберстов В.В., Арсюхина Л.И. Влияние микроэлементов на урожай и содержание действующих веществ в коробочках масличного мака // Тр. ВИЛР.- 1968.- Т. 13.- С. 138-142.

18. Школьник М.Я. Микроэлементы и их связь с регуляторами роста растений // Усп. совр. биол.- 1967.- Т. 64.- Вып. 1.- С. 88-106.
19. Bisht S.S., Mehrotra S.C. Iron-cobalt interaction in growth and metabolism in maize (*Zea mays*) // Indian J. Agric. Sci.- 1989.- Vol. 59.- N 10.- P. 650-654.
20. Boss W.F., Mott R.L. Effect of divalent cations and polyethylene glycol on the membrane fluidity of protoplast // Plant Physiol.- 1980.- Vol. 66.- N 5.- P. 835-837.
21. Buzuk G.N., Lovkova M.I. Influence of growth regulators and phytohormones on metabolism of isoquinoline alkaloids and some aspects of their action.- 5 Int. Conf. Chem. Biotechn. Biol. Activ. Comp. - Bulgaria-Varna, 1989. - Vol. 1. - P. 478-484.
22. Christiansen M.N., Foy C.D. Fate and function of calcium in tissue // Commun. Soil Sci. and Plant Anal.- 1979.- Vol. 10.- N 1-2.- P. 427-442.
23. Cole D.J. The mode of action of glyphosate // Brit. Crop. Prot. Conf. Weeds. Proc. Conf.- Brighton, 22-25 Nov. 1982.-Croydon, 1982.- Vol. 1.- P. 309-315.
24. Costes C., Milhet Y., Candillon C. et al. Mineral nutrition and morphine production in *Papaver somniferum* // Physiol. Plant.- 1976.- Vol. 36.- N 2. P. 201-207.
25. Coupe M., D'Auzac J. Actions de l'acide chloro-2-ethyl phosphonique (Ethrel) sur les polysomes du latex d'*Hevea brasiliensis* (Kunth)Mull.Arg. // Physiol. veg.- 1974.- Vol. 12.- N1.- P. 1-11.
26. Dallner G., DePierre J.W. Membrane induction by drugs // Meth. Enzymol.- 1983.- Vol. 96.- Pt. J.- P. 542-557.
27. D'Auzac I., Cretin H., Marin B. et al. A plant vacuolar system: the lutoids from *Hevea brasiliensis* latex // Physiol. veg.- 1982.- Vol. 20.- N 2.- P. 311-331.
28. Devlin R.M., Cunningham R.P. Effect of 2-chloroethylphosphonic acid on enzyme induction in barley endosperm // Econ. Bot.- 1970.- Vol. 24.- N 4.- P. 369-373.
29. Dorer M., Ozimic M. Vpliv giberelinske kisline, nekaterich mikroelementov in triptofana na tvorbo alkaloidov v kristavcu ( *Datura stramonium* L. ) // Farm. vestn. 1967.- T. 18.- N 1-12.- S. 193-214.
30. Dorer M., Lubej M., Zelenik M. Vpliv zunanjin ciniteljev na tvorbo alkaloidov in prostih amino kislin v volcji cesnji ( *Atropa belladonna* ) // Farm. vestn. 1972.- T. 23.- N 1.-S. 1-31.
31. Eilert U., Constabel F. Ultrastructure of *Papaver somniferum* cells cultured in vivo and treated with fungal homogenate eliciting alkaloid production // Protoplasma.- 1985.- Vol. 128.- N 1.- P. 38-42.
32. Encyclopedia of plant physiology. New series. Vol. 11. Hormonal regulation of development. 3. Role of environmental factors. Berlin: Springer Verlag, 1985.- 887 p.
33. Fairbairn J.W., Djote M. Alkaloid biosynthesis and metabolism in an organelle fraction in *Papaver somniferum* // Phytochemistry.- 1970.- Vol. 9.- N 4.- P. 439-432.
34. Floss H.G. The shikimic pathway - an overview // Recent Adv. Phytochem.- 1986.- Vol. 20.- P. 13-55.
35. Fonne-Pfister R., Simon A., Salaun J.P. et al. Xenobiotic metabolism in higher plants, involvement of microsomal cytochrome P-450 in aminopyrine N-demethylation // Plant Sci.- 1988.- Vol. 55.- N 1.- P. 9-20.
36. Gracza P., Verzar-Petri G. Wirkung der cytokinine auf die morphologischen verhaltnisse und den alkaloidgehalt der pflanze *Papaver somniferum* L. // Postep dziedzinie leku rosl. Symp. Poznan. 1970.- Poznan, 1972.- P. 182-189.
37. Gracza P., Verzar-Petri G. After effect of growth-influencing substances on the development and alkaloid contents of seedlings of *Papaver somniferum* // Bot. Kozl.- 1970.- Vol. 57.- N 4.- P. 259-262.
38. Graves C.J., Adams P., Winsor G.W. Some effect of copper deficiency on the flowering, copper status and phenolase activity of different cultivars of *Chrysanthemum morifolium* // J. Sci. Food Agr.- Vol. 30.- N 8.- P. 751-758.
39. Haider G., Kislinger T., Kutchan T.M. Barbiturate induced benzophenanthridine alka-

loid formation proceeds by gene transcript accumulation in the California poppy.- Biochem. Biophys. Res. Commun.- 1997.- Vol. 241.- N 2.- P. 606-610.

40. Hollaender H., Amrein N. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. Inhibition by glyphosate of phenylpropanoid synthesis in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) // Plant Physiol. 1980.- Vol. 66.- N 5.- P. 823-829.

41. Homeyer B.C., Roberts M.F. Dopamine accumulation in *Papaver somniferum* latex // Z. Naturforsch.- 1984.- Vol. C39.- N 11-12.- P. 1034-1037.

42. Homeyer B.C., Pham T., Roberts M.F. Studies of *Papaver* latex vesicles // Planta med.- 1988.- Vol. 55.- N 7.- P. 590-591.

43. Hsu A.F., Forman H.I. Effect of chloroethylphosphonic acid on capsule formation and alkaloid content in *Papaver somniferum* // Physiol. Plant.- 1982.- Vol. 54.- N 2.- P. 142-146.

44. Ishikura N., Teramoto S., Takeshima Y. Effect of glyphosate on the shikimate pathway and regulation of phenylalanine ammonia lyase in *Cryptomeria* and *Perilla* cell suspension cultures // Plant Cell Physiol.- 1986.- Vol. 27.- N 4.- P. 677-684.

45. Ishizawa K., Esashi Y. Ethylene-enhanced transport of uranine, a fluorescent dye, in rice seedling explants in relation to ethylenestimulated coleoptile growth // Plant Cell Physiol.- 1985.- Vol. 26.- N 2.- P. 237-244.

46. Ishizawa K., Esashi Y. Ethylene-enhanced transport of C-14 labelled metabolites in rice seedlings in relation to ethylene stimulated coleoptile growth // Plant Cell Physiol.- 1985.- Vol. 26.- N 8.- P. 1573-1581.

47. Jensen R.A. The shikimate/arogenate pathway: link between carbohydrate metabolism and secondary metabolism // Physiol. Plant.- 1986.- Vol. 66.- N 1.- P. 164-168.

48. Jindra A., Kovacs P., Pittnerova Z. et al. Biochemical aspects of the biosynthesis of opium alkaloids // Phytochemistry.- 1966.- Vol. 5.- P. 1303-1315.

49. Jindra A., Kovacs P., Psenak M. et al. Comparative biochemical, physiological and morphological studies of seeds and seedlings of various poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties // Annales Univ. Sci. Budapest. Sect. biol.- 1976-1977.- T. 18-19.- P. 91-112.

49. Jones R.G., Wyn L.O.R. The function of calcium in plants // Bot. Rev.- 1967.- Vol. 33.- N 4.- P. 407-426.

50. Kasamo K. Purification and properties of the plasma H<sup>+</sup> translocating adenosine triphosphatase of *Phaseolus mungo* L. roots // Plant Physiol.- 1986.- Vol. 80.- N 4.- P. 818-824.

50. Kutchan T.M., Rush M., Coscia C.J. Subcellular localization of alkaloids and dopamine in different vacuolar compartment of *Papaver bracteatum* // Plant Physiol.- 1986.- Vol. 81.- N 1.- P. 161-166.

51. Kuzminska K. Wplyw nawozenia borem na plon, zawartosc morfiny i tluszczu w roslinach maku lekarskiego (*Papaver somniferum* L.) // Herba polon.- 1970.- T. 16.- N 2.- S. 142-148.

52. Kuzminska K. Wplyw nawozenia magnezem przy dwoch poziomach wapnia i wilgotnosci gleby na plon i zawartosc morfiny w maku lekarskim (*Papaver somniferum* L.) // Herba polon. - 1972. - T. 18.- N 3.- S. 266-274.

53. Lacrotte R., Van de Sype H., Chrestin H. Ethylene effects on the use of exogenous sucrose by the laticiferous cell in *Hevea brasiliensis*: proposal for the action mechanism // Physiol. veg.- 1985.- Vol. 23.- N 2.- P. 187-198.

54. Laughlin J.E. The boron nutrition of poppies (*Papaver somniferum* L.) on krasnozem and allubial soils of Tasmania // Acta Hort.- 1980.- Vol. 96.- N 1. P. 227-234.

55. Loeffler S., Stadler R., Nigakura N. et al. Norcoclaurine as biosynthetic precursor of thebaine and morphine // J. Chem. Soc. Chem. Commun.- 1987.- N 15.- P. 1160-1162.

56. Makranjak M.S., Birmancevic M. Delovanje bora na sadrazaj morfina u maku // Acta pharm. Jugosl.- 1964.- T. 14.- N 3-4.- S. 85-88.

57. Margna U., Laanest L., Margna E. et al. L-tyrosine as precursor of flavonoids in buckwheat cotyledons // Z. Naturforsch.- 1985.- Bd. C40.- N 3-4.- S. 154-159.

58. Margna U., Vainjarv T., Margna E. Glyphosate effects on the biosynthesis of flavon-

oids from exogenous L-phenylalanine and L-tyrosine in buckwheat cotyledons // *Biochem. Physiol. Pflanzen.* - 1988.- Vol. 183.- N 4.- P. 329-335.

59. Marziach M., Lam C.H. Polyphenol oxidase from soybeans and its response to copper and other micronutrients // *J. Plant Nutr.*- 1987.- Vol. 10.- N 9-16.- P. 2089-2094.

60. Michna M., Szwadiak J. Wplyw nawozenia borem i dwiema formami nawozow azotowych na plon i zawartosc morfiny w makowkach maku odmiany Niebieski K.M. // *Biul. IRL.* - 1964. - T. 10.- N. 2-3.- S. 138-145.

61. Mifflin B.J., Lea P.J. Amino acid metabolism // *Annu. Rev. Plant Physiol.* - 1977.- Vol. 28.- P. 299-329.

62. Mifflin B.J., Lea P.J. Ammonia assimilation and amino acid metabolism // *Encycl. Plant Physiol. New Ser.*- 1982.- Vol. 14A.- P. 5-64.

63. Nessler C.L., Mahlberg P.G. Ontogeny and cytochemistry of alkaloids vesicles in laticifers of *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae) // *Am. J. Bot.*- 1977.- Vol. 64.- N 5.- P. 541-551.

64. Nessler C.L., Mahlberg P.G. Laticifers in organs redifferentiated from *Papaver somniferum* callus // *Can. J. Bot.*- 1979.- Vol. 57.- N. 5.- P. 675-685.

65. Okey A.B. Enzyme induction in the cytochrome P-450 system // *Pharmacol. Ther.*- 1990.- Vol. 45.- N. 2.- P. 241-298.

66. Poovaich B.W. Role of calcium in ripening and senescence // *Commun. Soil Sci. and Plant Anal.*- 1979.- Vol. 10.- N 1-2.- P. 83-88.

67. Poovaich B.W., Leopold A.C. Effect of inorganic salts on tissue permeability // *Plant Physiol.* 1976.- Vol. 58.- P. 182-185.

68. Ramanathan V.S. Effect of micronutrients on the yield of opium and its morphine content in opium poppy // *Indian J. Agric. Res.*- 1979.- Vol. 13.- N. 2.- P. 85-89.

69. Rauser W.E. Early effect of phytotoxic burdens of cadmium, cobalt, nickel and zinc in wheate beans // *Canad. J. Bot.*- 1978.- Vol. 56.- P. 1744-1749.

70. Reinchart D., Salan J.P., Benveniste I. et al. Induction by manganese, ethanol, phenobarbital and herbicides of microsomal cytochrome P-450 in higher plant tissue // *Arch. Biochem. Biophys.* - 1979.- Vol. 196.- N 1.- P. 301-309.

71. Roberts M.F. Polyphenolases in the 1000g fraction of *Papaver somniferum* latex // *Phytochemistry.*- 1971.- Vol. 10.- N 12.- p. 3021-3027.

72. Roberts M.F. *Papaver* latex and alkaloid storage vacuoles // *NATO ASI Ser. Ser. A.*- 1987.- Vol. 134(Plant Vacuoles).- P. 513-528.

73. Roberts M.F. Isoquinoline (*Papaver* alkaloids). *Phytochemicals in plant cell cultures* // *Cell Cult. Somatic Cell. Genet. Plants.*- 1988.- Vol. 5.- P. 315-334.

74. Roberts M.F., McCarthy D., Kutchan T.M. et al. Lokalizacja enzymow i alkaloidalnych metabolitow w *Papaver* latex // *Arch. Biochem. Biophys.*- 1983.- Vol. 222.- N 2.- P. 599-609.

75. Robins R.J., Payne J., Rhodes M.J.C. The production of anthraquinones by cell suspension cultures of *Cinchona ledgeriana* // *Phytochemistry.*- 1986.- Vol. 25.- N 10.- P. 2327-2334.

76. Rubin J.L., Jensen R.A. Differentially regulated isozymes of 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphatase synthase from seedlings of *Vigna radiata* L. // *Plant Physiol.*- 1985.- Vol. 79.- N 3. P. 711-718.

77. Rubin J.L., Gaines C.G., Jensen R.A. Enzymological basis for herbicidal action of glyphosphate // *Plant Physiol.*- 1982.- Vol. 70.- N 3.- P. 833-839.

78. Rubin J.L., Gaines C.G., Jensen R.A. Glyphosate inhibition of 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphatase synthase from suspension cultured of *Nicotiana glauca* // *Plant Physiol.*- 1984.- Vol. 75.- N 3.- P. 839-845.

79. Rueffer M., Zenk M.H. Distant precursor of benzyloquinoline alkaloids and their enzymic formation // *Z. Naturforsch.*- 1987.- Bd. C42.- N 4.- S. 319-332.

80. Sajo R., Kosuge T. The conversion of 3-desoxy-arabino-heptulosonate 7-phosphate to 3-dehydroquinate by sorghum seedling preparations // *Phytochemistry.*- 1978.- Vol. 17.- N 2.- P.



223-225.

81. Sato M., Hasegawa M. The latency of spinach chloroplast phenolase // *Phytochemistry*.- 1976.- Vol. 15.- N 1.- P. 61-65.
82. Simpson A.P., Kelly S.L. Cytochrome P-450 induced/inhibitor effect on cell cultures of *Catharanthus roseus* // *Plant Sci.*- 1989.- Vol. 60.- N 2.- P. 231-236.
83. Sze H. H<sup>+</sup> -translocating ATPases of the plasma membrane and tonoplast of plant cells // *Physiol. Plant.*- 1984.- Vol. 61.- N 4.- P. 683-691.
84. Sze H. H<sup>+</sup> -translocating ATPases: advances using membrane vesicles // *Ann. Rev. Plant Physiol.*- 1985.- Vol. 36.- P. 175-208.
85. Tample-Smith M.G., Wright D.N., Laughlin J.C. et al. Field response of poppies (*Papaver somniferum* L.) to time application on acid krasnozems in Tasmania // *J. Agr. Sci.*- 1983.- Vol. 100.- N 2.- P. 485-492.
86. Terry N. Physiology of trace element toxicity and relation to iron stress // *J. Plant Nutr.*- 1981.- Vol. 3.- N 1-4.- P. 561-578.
87. The herbicide glyphosate.- London: Butterworths, 1985.- 490 p.
88. Vaughn K.C., Duke S.O. Tentoxin stops the processing of polyphenol oxidase into an active protein // *Physiol. Plant.*- 1984.- Vol. 60.- N 2.- P. 257-261.
89. Wichers H.J., Malingre T.M., Huizing H.J. The effect of some environmental factors on the production of L-DOPA by alginate-entrapped cells of *Mucuna pruriens* // *Planta.*- 1983.- Vol. 158.- P. 482-486.
90. Williams L.E., Hall J.L. Solubilization, reconstitution and characterization of vanadate-sensitive ATP driven hydrogen ion transport from cotyledons of *Ricinus communis* // *J. Exp. Bot.*- 1989.- Vol. 40.- N 220.- P. 1215-1221.
91. Zecat P. Influence de quelques actions physiologiques sur la biogenese et la migration de la morphine dans les capsules de pavot oeillette // *Bull. Soc. Franc. Physiol. Veget.*- 1961.- Vol. 7.- N 1.- P. 43-44.

#### SUMMARY

Buzuk G.N., Lovkova M.Ja.\*, Sokolova S.M.\*

#### MINERAL ELEMENTS, REGULATORS OF GROWING AND PHYTOHORMONES IN REGULATION OF FORMATION AND ACCUMULATIONS OF ISOQUINOLINE ALKALOIDS PAPAVER SOMNIFERUM L.

With use as a model system of seedlings of *Papaver somniferum* studied influence of increasing doses of mineral elements, regulators of growing and phytohormones on formation and accumulation of isoquinoline alkaloids. Installed main regularities of their influence, decoded mechanism of action of cobalt and gibberellin on this process.